



تأثیر دو نوع تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی IBA و NAA بر تعداد و طول ریشه در چهار روز تاریکی در ریشه‌زایی درون شیشه‌ای پایه سیب MM111

عاطفه مشاری نصیرکندی^{۱*}، بهمن حسینی^۲، علیرضا فرخزاد^۳، لطفعلی ناصری^۴

^{۱*} دانشجوی دکتری اصلاح و بیوتکنولوژی گیاهان باغبانی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه ارومیه
^۲ دانشیار گروه علوم باغبانی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه ارومیه
^۳ استادیار گروه علوم باغبانی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه ارومیه
^۴ نویسنده مسئول: ati.moshari@yahoo.com

چکیده

درخت سیب با نام علمی *Malus domestica* متعلق به تیره Rosaceae و مهم‌ترین میوه دانه‌دار محسوب می‌شود. تکثیر درون شیشه‌ای یکی از تکنیک‌های مرسوم برای تولید انبوه گیاهان است. این آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام گردید. در این تحقیق اثر دو نوع محیط کشت پایه MS و 1/2MS حاوی دو نوع تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی IBA و NAA در چهار غلظت صفر (شاهد)، 1/5، 3 و 4/5 میلی‌گرم در لیتر در مرحله چهار روز تاریکی بر صفات تعداد و طول ریشه بررسی گردید. داده‌برداری پس از چهار هفته انجام گردید. پس از آنالیز داده‌ها بیشترین میانگین تعداد ریشه (با میانگین 1/62) و طول ریشه (با میانگین 1/85 سانتی‌متر) در محیط کشت MS حاوی 3 میلی‌گرم در لیتر IBA مشاهده گردید

کلمات کلیدی: تکثیر، گیاهان، محیط کشت

مقدمه

پایه MM111 جزء پایه‌های نیمه‌قوی یا نیمه‌استاندارد است و درختان بر روی آن به اندازه 90 درصد درختان پیوندی بر روی پایه‌های بذری است. از این پایه هنوز هم در خاک‌های فقیر و سبک‌تر به عنوان پایه و میان‌پایه استفاده می‌شود. پایه MM111 از تلاقی نورسن‌اسپای و MI-793 حاصل شده است. این پایه به آسانی در خزانه ازدیاد می‌شود. این پایه با داشتن برگ‌های خشن و زبر، ساقه نازک و راست قابل تشخیص است. در آزمایش‌های مزرعه‌ای با میزان رطوبت متفاوت خاک ثابت شده است که پایه MM111 بیش‌ترین مقاومت به خشکی خاک را دارد. طی آزمایش‌های طولانی مشخص شده است که گرچه درختان بر روی این پایه زودبارده نمی‌باشند ولی نسبت به درختان پیوندی بر روی پایه‌های بذری خیلی پربارده هستند و همچنین به نظر می‌رسد که این پایه در مقایسه با پایه‌های دیگر به انواع خاک‌ها و آب و هواهای مختلف مقاوم می‌باشد. (رادنیا، 1375).

برای ازدیاد مؤفق و نگهداری درون شیشه، انتخاب محیط کشت صحیح یکی از مهم‌ترین گام‌ها در توسعه یک دستورالعمل مؤفق است توسعه یک محیط کشت مناسب برای یک محصول ویژه می‌تواند کاملاً پیچیده باشد زیرا پاسخ به محیط کشت، اغلب وابسته به ژنوتیپ می‌باشد (Ramage and Williams, 2002).

کشت بافت گیاهی به تکثیر یا پرآوری سلول‌ها، بافت‌ها و اندام‌ها در محیط کشت مایع یا جامد تحت شرایط محیطی استریل و کنترل شده اشاره دارد. تکنولوژی کشت بافت گیاهی بیشتر برای تکثیر در سطح وسیع گیاهان استفاده می‌شود. این تکنولوژی تجاری بر پایه ریزازدیادی است که در آن پرآوری سریع گیاه به وسیله ریز قلمه‌های



ساقه‌های کوچک، جوانه‌های محوری و در سطح محدودتری از رویان‌های سوماتیکی بدست می‌آید. ریزازدیادی باززایی درون‌شیشه‌ای گیاهان از اندام‌ها، بافت‌ها، سلول‌ها و تکثیر شبیه به اصل یک ژنوتیپ انتخابی یا استفاده از تکنیک کشت درون‌شیشه‌ای می‌باشد. هدف از فرایند ریزازدیادی گیاه تولید کلون (کپی‌های واقعی از یک گیاه در تعداد فراوان) است (Singha, 1982). تعداد ریشه‌ی نابجای تولیدی به ازای شاخه‌چه در پایه پیروودآرف در چهار هفته روی محیط کشت MS فاقد تنظیم‌کننده رشد و پس از شش هفته در محیط کشت حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA مشاهده شد پایه‌های گلابی در محیط کشت MS همراه با ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA از نظر صفات تعداد ریشه و طول ریشه بهترین پاسخ را نشان دادند (نورمحمدی و همکاران، ۱۳۹۴). در تحقیقی در مورد ریزازدیادی انگور هیبرید Southern home، Compton و Gray (۱۹۹۴)، نتیجه گرفتند که ۷۶ و ۸۳ درصد از شاخه‌های پرآوری شده پس از انتقال به محیط کشت حاوی به ترتیب ۱ میکرومولار NAA یا IBA ریشه‌دار شدند و فقط ۴۳ درصد از شاخه‌چه‌های این رقم در محیط فاقد اکسین ریشه‌دار شدند.

مواد و روش‌ها

شاخه‌چه‌های ریزازدیادی شده روی محیط کشت پایه MS و $1/2MS$ حاوی دو نوع تنظیم‌کننده رشد گیاهی اسید- ایندول بوتیریک^۱ (IBA) و اسید نفتالین استیک^۲ (NAA) در چهار غلظت صفر (شاهد)، ۱/۵، ۳ و ۴/۵ میلی‌گرم در لیتر استفاده شد. آزمایش به صورت فاکتوریل ($2 \times 2 \times 4$) در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. برای این منظور شاخه‌چه‌های پایه سیب MM111 در تیمارهای آزمایشی شامل MS و $1/2MS$ با غلظت‌های مختلف اسید ایندول- بوتیریک و اسید نفتالین استیک مورد زیرکشت قرار گرفت. محیط کشت‌ها حاوی نمک‌های MS با ۳۰ گرم بر لیتر ساکارز و ۶ گرم آگار بود. اسیدیته کلیه محیط‌های کشت قبل از افزودن آگار در حد $5/7$ تنظیم شد. کلیه شاخه‌چه‌های مورد استفاده برای ریشه‌زائی به صورت جداگانه به مدت چهار روز در محیط حاوی تنظیم‌کننده رشد گیاهی و در تاریکی قرار گرفتند. همزمان با آغازش کالوس‌های تازه و سفید رنگ در انتهای آن‌ها، به محیط عاری از تنظیم‌کننده رشد گیاهی منتقل شدند. شاخص‌های مورد نظر شامل میانگین تعداد ریشه به ازاء هر ریزشاخه و میانگین طول ریشه-چه‌های هر ریزشاخه در محیط‌های مختلف بود. یادداشت برداری‌ها بر اساس شروع آغازش و رشد ریشه‌ها پس از گذشت چهار هفته انجام شد.

نتایج و بحث

مقایسه اثر نوع محیط کشت، نوع و غلظت تنظیم‌کننده رشد گیاهی در سطح احتمال یک درصد بر تعداد و طول ریشه در پایه سیب MM111 معنی‌دار شده است. همچنین اثر متقابل نوع محیط کشت و نوع تنظیم‌کننده رشد گیاهی در سطح احتمال یک درصد بر تعداد ریشه معنی‌دار شده است. اثر متقابل نوع محیط کشت و غلظت تنظیم‌کننده رشد گیاهی و اثر متقابل نوع و غلظت تنظیم‌کننده رشد گیاهی در سطح احتمال یک درصد بر تعداد و طول ریشه معنی‌دار شده است.

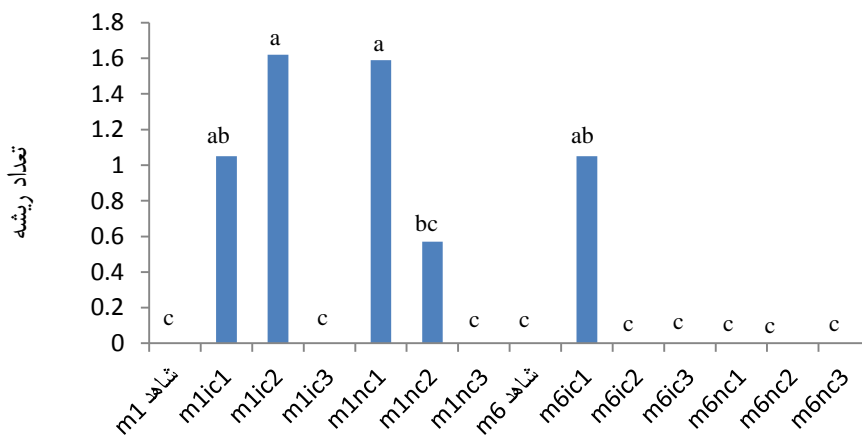
مقایسه میانگین اثر متقابل نوع محیط کشت، نوع و غلظت تنظیم‌کننده رشد گیاهی نشان داد که بین تیمارهای مورد مطالعه اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد وجود دارد (نمودار ۱). حداکثر تعداد ریشه با میانگین $1/62$ در محیط کشت MS حاوی IBA در غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر و حداقل تعداد ریشه با میانگین صفر (فاقد ریشه‌زایی) در محیط کشت MS فاقد تنظیم‌کننده رشد گیاهی، محیط کشت MS حاوی NAA در غلظت ۴/۵ میلی‌گرم در لیتر و

^۱. Indol-3-Butyric-Acid

^۲. 1.Naphthaleneaceticacid



IBA در غلظت ۴/۵ میلی گرم در لیتر، محیط کشت ۱/۲MS فاقد تنظیم کننده رشد گیاهی، محیط کشت ۱/۲MS حاوی IBA در غلظت‌های ۳ و ۴/۵ میلی گرم در لیتر، محیط کشت ۱/۲MS حاوی NAA در غلظت‌های ۱/۵، ۳ و ۴/۵ میلی گرم در لیتر مشاهده گردید. بین تیمار m1nc2 با تیمارهای m1nc1 و m1nc2 تفاوت معنی دار مشاهده گردید. افزایش تعداد ریشه در محیط کشت MS می‌تواند به دلیل تأمین مناسب مواد غذایی جهت رشد بیشتر ریشه‌ها باشد. با دو برابر شدن غلظت نمک‌ها در محیط MS نسبت به ۱/۲MS مواد غذایی بیشتری برای ریشه‌ها فراهم می‌گردد. غلظت بالای اکسین موجب تحریک تولید ریشه‌های ثانویه در ریشه می‌گردد. نتایج این تحقیق با نتایج تحقیقات تاتاری و موسوی (۱۳۹۲) که گزارش کردند در پایه‌های رویشی تترا، نماگارد و GF677 بیشترین تعداد ریشه و درصد ریشه‌زایی در محیط MS تغییر یافته با ۱ میلی گرم در لیتر اسید نفتالین استیک حاصل شد، مطابقت نشان نداد.



نوع محیط کشت و غلظت‌های مختلف تنظیم کننده های رشد گیاهی (میلی گرم بر لیتر)

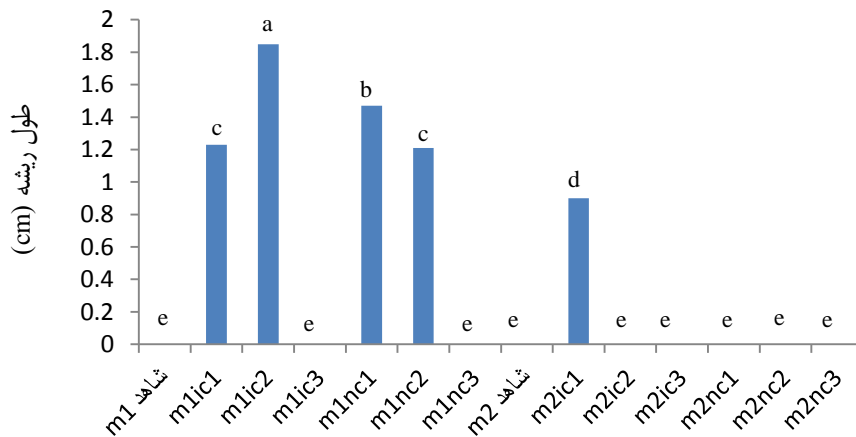
نمودار «۱» مقایسه میانگین اثر متقابل نوع محیط کشت، نوع و غلظت تنظیم کننده‌های رشد گیاهی IBA و NAA بر تعداد ریشه پایه سیب MM111. حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف در سطح احتمال یک درصد آزمون دانکن می‌باشد.

m1: محیط کشت MS، m6: محیط کشت ۱/۲MS، i: IBA، n: NAA، c1: غلظت ۱/۵ میلی گرم در لیتر، c2: غلظت ۳ میلی گرم در لیتر و c3: غلظت ۴/۵ میلی گرم در لیتر

مقایسه میانگین اثر متقابل نوع محیط کشت، نوع و غلظت تنظیم کننده رشد گیاهی نشان داد که بین تیمارهای مورد مطالعه اختلاف معنی دار در سطح احتمال یک درصد وجود دارد (نمودار ۲). حداکثر طول ریشه با میانگین ۱/۸۵ سانتی متر در محیط کشت MS حاوی IBA در غلظت ۳ میلی گرم در لیتر و حداقل طول ریشه با میانگین صفر (فاقد ریشه‌زایی) در محیط کشت MS فاقد تنظیم کننده رشد گیاهی، محیط کشت MS حاوی NAA در غلظت ۴/۵ میلی گرم در لیتر، محیط کشت ۱/۲MS فاقد تنظیم کننده رشد گیاهی، محیط کشت ۱/۲MS حاوی IBA در غلظت ۴/۵ میلی گرم در لیتر، محیط کشت ۱/۲MS حاوی NAA در غلظت‌های ۱/۵، ۳ و ۴/۵ میلی گرم در لیتر مشاهده گردید. بین تیمارهای m1nc2 و m1nc1 تفاوت معنی دار مشاهده نگردید در حالیکه بین این دو تیمار با بقیه تیمارها تفاوت معنی دار مشاهده گردید. کمبود مواد کانی از جمله نیتروژن، فسفر، منیزیم، پتاسیم، کلسیم و روی موجب کاهش ریشه‌زایی می‌گردد. غلظت ۳ میلی گرم در لیتر IBA غلظت مناسب برای پاسخ به ریشه‌زایی می‌باشد در غلظت بالاتر از این مقدار میزان تشکیل کالوس افزایش می‌یابد و در نتیجه ریشه‌زایی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. نتایج این تحقیق با نتایج تحقیقات



نورمحمدی و همکاران (۱۳۹۴) که گزارش کردند پایه‌های گلابی در محیط کشت MS همراه با ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA از نظر صفات تعداد و طول ریشه بهترین پاسخ را نشان دادند، مطابقت نشان نداد.



نوع محیط کشت و غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی (میلی‌گرم در لیتر)

نمودار «۲» مقایسه میانگین اثر متقابل نوع محیط کشت، نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی IBA و NAA بر طول ریشه پایه سیب MM111. حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف در سطح احتمال یک درصد آزمون دانکن می‌باشد. m1: محیط کشت MS، m6: محیط کشت 1/2MS، i: IBA، n: NAA، c1: غلظت ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر، c2: غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر و c3: غلظت ۴/۵ میلی‌گرم در لیتر

منابع

تاتاری، م. و موسوی، ا. ۱۳۹۲. بهینه‌سازی کشت درون شیشه‌ای پایه‌های رویشی تتر، نماگارد و GF677. مجله‌ی به‌زراعی کشاورزی، ۱۵ (۳): ۱۰۳-۱۱۵.

رادنی، ج. ۱۳۷۵. پایه‌های درختان میوه (تألیف روی سی‌رم و رابرت اف کارلسون). چاپ اول. نشر آموزش کشاورزی، ۶۳۷ ص.

نورمحمدی، ن.، عبداللهی، ح.، معینی، آ. و روح‌الامین، ا. ۱۳۹۴. تأثیر محیط‌های رشد و منبع آهن در ریزازدیادی و ریشه‌زایی پایه‌های نیمه‌پاکوتاه کننده گلابی پیروودوارف و OH × F87. مجله به‌زراعی نهال و بذر، ۳۱ (۲): ۲۶۵-۲۷۸.

Compton, M. and Gray, D. 1994. Micropropagation of southern home hybrid grape. 107th annual meeting of the Florida state Horticultural Society Orlando. Florida. Proceeding of the Florida state Horticultural Society. 107: 308-310.

Ramage, C.M. and Williams, R.R. 2002. Mineral nutrition and plant morphogenesis. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 38: 116-124.

Singha, S. 1982. Influence of agar concentration on *in vitro* shoot proliferation of *Mallus* sp. *Almey and Pyrus communis* Seckel. *Journal of American Society for Horticultural Science*; 107: 657-660.



The effect of two type of plant growth regulations IBA and NAA on root number and root length in four day darkness in the *in vitro* rooting of MM111 apple rootstock

Atefeh moshari nasirkandi^{*1}, Bahman hosseini², Alireza farokhzad³, Lotfali nasiri⁴

^{*1}Ph.D. student of breeding and biotechnology of horticultural plants, Horticulture Department of agriculture Faculty of Urmia University: ati.moshari@yahoo.com

^{2,4}Associate professor, Horticulture Department of agriculture Faculty of Urmia University

³Assistant professor, Horticulture Department of agriculture Faculty of Urmia University

^{*}Corresponding Author: ati.moshari@yahoo.com

Abstract

In vitro proliferation of conventional techniques for mass production plant. In this study was studied effect of two type of basal medium MS and ½MS contain two type of plant growth regulations IBA and NAA in four concentration 0 (control), 1.5, 3 and 4.5 mg/l in stage of four day darkness on characteristics root number and root length. Vector data after four weeks. After analyzing the data of the highest average of root number (average 1.62) and root length (average 1.85 cm) was observed in MS medium supplemented with 3 mg/l IBA.

Keywords: medium, plant, propagation

